

2013-08-28

Electrochemical Behavior and Content Determination of Paeonol at Poly Sudan III Modified Electrode

Yan-jie ZHENG

Ai-lin LIU

Yun LEI

Xin-hua LIN

*Department of Pharmaceutical Analysis , Faculty of Pharmacy, Fujian Medical University , Fuzhou
350004 , China; xinhua63@163.com*

Recommended Citation

Yan-jie ZHENG, Ai-lin LIU, Yun LEI, Xin-hua LIN. Electrochemical Behavior and Content Determination of Paeonol at Poly Sudan III Modified Electrode[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2013 , 19(4): 383-387.

DOI: 10.61558/2993-074X.2125

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol19/iss4/12>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

丹皮酚在聚苏丹红Ⅲ/GC 电极上的电化学行为及测定

郑艳洁, 刘爱林, 雷 云, 林新华*

(福建医科大学药学院药物分析系, 福建 福州 350004)

摘要: 应用交流阻抗法和循环伏安法表征聚苏丹红Ⅲ/GC 电极, 并研究丹皮酚在该聚合物电极上的电化学行为. 实验表明, 聚苏丹红Ⅲ/GC 电极对丹皮酚具有良好的电催化作用, 在 $3.0 \times 10^{-7} \sim 2.2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内, 其差示脉冲伏安峰电流随浓度变化呈良好的线性关系, 检测限为 $5.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 该法可用于实际样品中丹皮酚的测定, 结果令人满意.

关键词: 丹皮酚; 苏丹红Ⅲ; 修饰电极; 电化学生物
中图分类号: O657.1

文献标识码: A

丹皮酚(Paeonol, Pae) 又称牡丹酚, 是毛茛科芍药属植物牡丹、芍药的根皮和萝藦科植物徐长卿的根或全草中提取分离出来的活性成分, 其分子结构式如图 1 所示. 丹皮酚具有镇痛、抗动脉粥样硬化、抗过敏与抗炎、抗肿瘤、抗微生物感染、改善血液循环及神经保护等药理作用^[1], 其半衰期短, 不良反应少, 临床上常用于镇痛、止痒及免疫低下引起的各种疾病治疗, 具有重要的经济价值. 因此, 建立快速、灵敏检测丹皮酚的方法在中药的质量控制、临床和基础研究中都具有重要意义. 目前丹皮酚含量测定方法有紫外分光光度法^[2]、高效液相色谱法^[3]、荧光法^[4]和电化学方法等. 在电化学方法中主要集中在悬汞电极^[5]、超微电极^[6]、乙炔黑^[7]和碳纳米管修饰电极^[8]上的研究, 但这些方法存在操作繁琐、试剂消耗量大, 电极材料制备周期长、污染大、检测限高等问题. 为了克服上述方法的不足, 作者利用聚合物薄膜修饰电极, 具有可提供三维空间结构、含有较多的活性部位、制备简单、催化活性高、稳定性和重现性好的特点, 制备了聚苏丹红Ⅲ/GC 电极. 由于苏丹红Ⅲ具有大的共轭体系, 有利于分子在电极表面的吸附. 研究发现, 该聚合膜对丹皮酚具有优良的电催化氧化作用, 可用于牡丹皮中丹皮酚的直接测定, 明显地提高了灵敏度及准

确度, 结果令人满意.

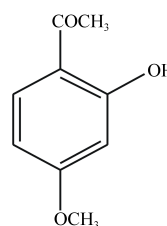


图 1 丹皮酚的分子结构

Fig. 1 Molecular structure of paeonol

1 实验

1.1 试剂与仪器

CHI630C、CHI760D 电化学分析仪 (上海辰华); 三电极体系: 工作电极为玻碳基底(GC)电极, 对电极为铂丝电极, 参比电极为 Ag/AgCl 电极; pHHS-3B 型精密酸度计; KQ-250DE 型医用数控超声波清洗器; JB-1 型搅拌器; 电子天平; Milli-Q 超纯水 (美国 Millipore). 苏丹红Ⅲ (Fluka); 丹皮酚对照品 (纯度 98% 以上); 牡丹皮; $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 缓冲液; 铁氰电对溶液由 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ - $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 和 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 KCl 配制; 其它试剂均为分析纯, 实验用水为 Milli-Q 水.

收稿日期: 2012-07-11, 修订日期: 2012-08-23 * 通讯作者, Tel: (86-591)22862016, E-mail: xhl1963@sina.com.cn

国家 863 计划项目 (No. 2012AA022604)、国家自然科学基金项目 (No. 81171668)、福建省自然科学基金项目 (No. 2010J06011)、福建省高校产学研合作重大项目 (No. 2010Y4003) 和福建医科大学重大科研项目 (No. 09ZD013) 资助

1.2 实验方法

1) 修饰电极的制备

将玻碳基底电极依次用金相砂纸、 $0.05\ \mu\text{m}$ 三氧化二铝粉末和水的混合物抛光,并依次在丙酮、硝酸溶液 (1:1, by volume)、 $0.2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠、无水乙醇以及 Milli-Q 水中超声清洗. 将处理好的 GC 基底电极置于含 $1\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 苏丹红 III 的 $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 溶液中, $-0.8\sim 1.5\ \text{V}$ 电位范围, $100\ \text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 扫速循环扫描 20 周期. 该聚合物电极经 Milli-Q 水清洗干净放入 PBS 溶液中保存备用.

2) 修饰电极的表征与测试

① 交流阻抗谱图

在 $0.05\ \text{Hz}\sim 100\ \text{MHz}$ 的频率范围, $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl + $10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ - $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 支持电解质中测定聚合物修饰电极电化学阻抗谱图.

② 循环伏安测量

在支持电解质为 $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 溶液中, 以 $10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 作为电化学探针分子, 用循环伏安法在不同扫速下分别测量聚合物修饰电极和 GC 电极的微观面积.

3) 丹皮酚电化学测定

在 $0\sim 1.2\ \text{V}$ 电位区间内, 以 $100\ \text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 的扫速分别测量循环伏安 (CV) 曲线和差示脉冲伏安 (DPV) 曲线, 同时分析测定牡丹皮样品.

2 结果与讨论

2.1 聚合物修饰电极的电化学表征

图 2 表示在 $10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ - $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ + $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 溶液中聚苏丹红 III/GC 电极的阻

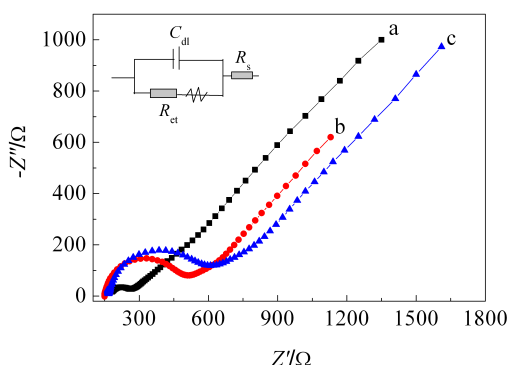


图 2 GC 电极(a)和聚苏丹红 III/GC 电极(b、c, 分别电聚合 20 和 30 周期)的交流阻抗谱图

Fig. 2 Electrochemical impedance spectra (EIS) of bare electrode (a) and poly Sudan III modified electrode (b, 20 cycles; c, 30 cycles)

抗谱图. 结果显示, 在相同的电化学条件下, GC 电极 (曲线 a) 在高频区出现小半圆弧, 说明电子转移阻力较小, 电化学反应速率较快; 聚苏丹红 III/GC 随聚合周期的增加 (曲线 b 为 20 周期, 曲线 c 为 30 周期), 在高频区部分的半圆弧直径随之增大, 这表明膜的电传递阻力有所增加.

在不同扫速下分别测量聚苏丹红 III/GC 电极和 GC 电极的循环伏安曲线, 根据 Randles-Sevcik 公式: $I_{pa} = 2.69 \times 10^5 A D_R^{1/2} n^{3/2} v^{1/2} C_0$, 式中, I_{pa} 为氧化峰电流, n 为电子转移数, A 为电极面积, D_R 为扩散系数, C_0 为溶液中电活性物质的浓度, v 为扫描速率. 已知 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的 $n = 1$, $D_R = 7.60 \times 10^{-6}\ \text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ($0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl), 由 I_{pa} 和 $v^{1/2}$ 关系曲线的斜率可分别计算出 GC 电极和聚苏丹红 III/GC 电极的表观面积分别为 $0.109\ \text{cm}^2$ 和 $0.171\ \text{cm}^2$, 该聚苏丹红 III/GC 电极的表面积是 GC 的 1.57 倍.

2.2 丹皮酚的电化学行为

图 3 为 GC 电极和聚苏丹红 III/GC 电极在 PBS (pH 7.0) 底液和含丹皮酚的 PBS 溶液的循环伏安曲线. 在 PBS 底液中, GC 电极 (曲线 a) 和聚苏丹红 III/GC 电极 (曲线 b) 均无电流响应信号. 加入 $4.2\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丹皮酚后, GC 电极在 $0.905\ \text{V}$ 电位处出现一氧化峰 (曲线 c); 聚苏丹红 III/GC 电极于 $0.867\ \text{V}$ 处出现一较强的不可逆氧化峰 (曲线 d), 与 GC 电极相比, 其氧化峰电位负移 $38\ \text{mV}$, 其

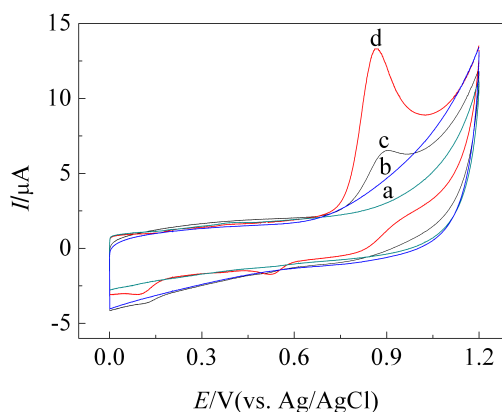


图 3 GC 电极(a、c)和聚苏丹红 III/GC 电极(b、d)在 PBS 底液(a、b)和含丹皮酚 GC 的 PBS 溶液(c、d)中的循环伏安曲线 (扫速: $100\ \text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$)

Fig. 3 CV curves of the bare electrode (a, c) and poly Sudan III modified electrode (b, d) in PBS (pH 7.0) (a, b) and in PBS containing paeonol (c, d) (scan rate: $100\ \text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$)

峰形较好, 峰电流响应明显增大, 为 GC 电极的 4.23 倍, 表明聚苏丹红Ⅲ/GC 电极对丹皮酚具有较好的电催化氧化作用。

2.3 测定条件的优化

1) 聚苏丹红Ⅲ膜厚度

聚合周期数的选择直接决定聚合膜的厚度, 当聚合膜太厚, 可能阻碍电极和溶液间的电子传递, 不利于电子交换, 其响应电流反而降低. 实验结果表明, 聚苏丹红Ⅲ/GC 电极对丹皮酚的灵敏度随扫描周期的增加而升高, 当 20 周期时, 其氧化峰电流达到极大值, 随后, 其峰电流下降. 故选取 20 循环周期为宜。

2) 底液 pH

不同 pH 值溶液聚苏丹红Ⅲ/GC 电极丹皮酚的循环伏安图如图 4 所示, 随着溶液 pH 值增加, 丹皮酚的氧化峰电位负移, 在 pH 3.0 ~ 10.0 范围内, 其氧化峰电位与 pH 值呈线性关系, 线性方程为 $E_{pa} = 1.2305 - 0.0491\text{pH}$, $r = 0.9947$, 斜率为 $0.0491 \text{ V} \cdot \text{pH}^{-1}$. 丹皮酚的氧化峰电流随 pH 先增大后减小, 当 pH 7.0 其响应值最大, 故选取该 pH 值的 PBS 缓冲液。

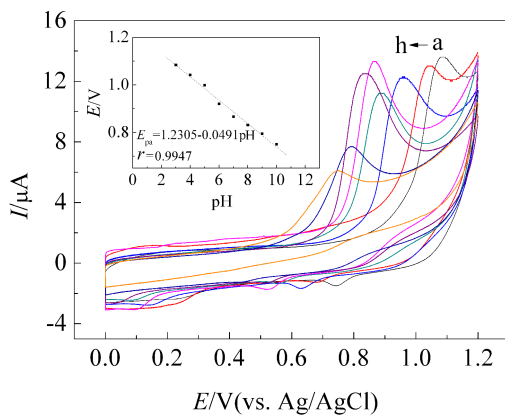


图 4 不同 pH 值溶液丹皮酚在聚苏丹红Ⅲ/GC 电极的循环伏安图

Fig. 4 Cyclic voltammograms of paeonol at poly Sudan III modified electrode with various pH in PBS (a→h): 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0 (scan rate: $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$)

3) 扫描速率的选择

实验表明, 聚苏丹红Ⅲ/GC 电极的丹皮酚氧化峰电流随着扫描速率的增加而明显增大, 在 20 ~

$200 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 扫速范围, 其峰电流 I_p 与扫速 v 呈良好的线性关系, $I_p = 0.0339v + 2.0344$, $r = 0.9938$. 说明丹皮酚在该修饰电极上的氧化反应是受表面吸附控制, 扫速过高其充电电流增大, 不利于峰电流的测定, 故设定适宜的扫速为 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.

2.4 线性范围及检出限

图 5 给出不同浓度丹皮酚的 PBS (pH 7.0) 溶液在聚苏丹红Ⅲ/GC 电极的差示脉冲伏安曲线. 从图 5 可以看出, 丹皮酚氧化峰电流 (I_{pa} , μA) 与浓度 (C , $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在 $0.3 \sim 22.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系, 线性方程为 $I_{pa} = 2.5256C + 0.0457$, $r = 0.9994$, 检测限为 $5.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 与在 GC 电极的响应相比, 其灵敏度提高了 1 个数量级。

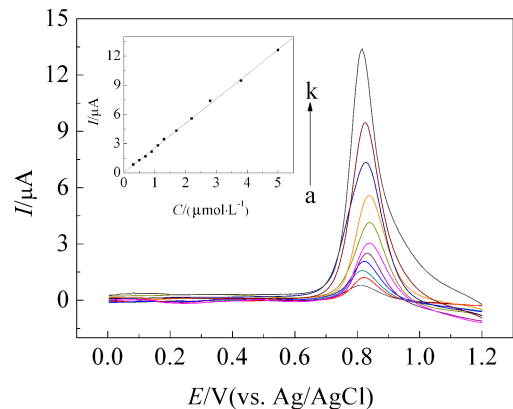


图 5 不同浓度丹皮酚的 PBS (pH 7.0) 溶液在聚苏丹红Ⅲ修饰/GC 电极的差示脉冲伏安图

$C/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$: a. 0.3; b. 0.5; c. 0.7; d. 0.9; e. 1.1; f. 1.3; g. 1.7; h. 2.2; i. 2.8; j. 3.8; k. 5.0

Fig. 5 Differential pulse voltammograms of various concentrations of paeonol at poly Sudan III modified electrode in PBS of pH 7.0

$C/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$: a. 0.3; b. 0.5; c. 0.7; d. 0.9; e. 1.1; f. 1.3; g. 1.7; h. 2.2; i. 2.8; j. 3.8; k. 5.0

2.5 电极稳定性及重现性

在最佳实验条件下, 将聚苏丹红Ⅲ/GC 电极置于 PBS 底液中使其循环扫描至曲线稳定后, 又置于含有 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹皮酚的 PBS (pH 7.0) 溶液中考察该聚合物电极的稳定性, 连续 10 次测定后, 丹皮酚氧化峰电流相差 $\pm 3\%$, 将该聚合物电极置于 PBS 缓冲溶液 (pH 7.0) 冷藏保存 30 天后, 其电催化活性仍保留 85%。

2.6 干扰实验

在含 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 丹皮酚的 PBS (pH 7.0) 溶液中 (相对误差 $\pm 5\%$), 考察了一些常见共存物质如 250 倍的 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 Ac^- , 50 倍的抗坏血酸、尿酸, 2 倍的 *L*- 酪氨酸及等量的 VB_6 对测定结果的影响. 结果表明上述共存物均不干扰测量. 由此可见聚苏丹 III/GC 电极抗干扰能力强, 对丹皮酚的测定有较好的选择性.

2.7 中药牡丹皮中丹皮酚的测定

1) 样品处理及测定

取本品粗粉约 0.5 g, 精密称重, 置于具塞锥形瓶中, 加入 50 mL 甲醇, 密塞, 称重, 超声处理 30 min, 冷却后又称重, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得样品溶液. 另取 2 批样品, 按同法处理, 以 DPV 法测定丹皮酚含量, 并与药典方法 (HPLC 法) 对比, 结果见表 1. 测定表明 DPV 法测得的牡丹皮中丹皮酚平均含量为 1.28%, 符合 2010 版药典“按干燥品计算, 含丹皮酚不得少于 1.2%”的规定^[9].

表 1 样品含量测定结果

Tab.1 Contents of samples determined by different methods

No.	DPV method		HPLC method	
	Content	RSD/%	Content	RSD/%
1	1.34	1.3	1.37	1.2
2	1.26	1.5	1.29	1.4
3	1.24	1.2	1.27	1.3

2) 回收率

在样品溶液中分别加入一定量的丹皮酚标准溶液, 按照 DPV 法测定计算回收率, 回收率范围为 96.8% ~ 105.2%, 平均回收率为 98.4%, RSD 为 1.3%.

3 结 论

聚苏丹 III/GC 电极对丹皮酚有明显的电催化作用, 该聚合物电极制备简单, 重现性好, 与其它方法相比, 具有简便、快速、样品用量少、检测灵敏度

高以及稳定性好等特点, 可为中药中丹皮酚的质量控制和检测提供一种新的方法.

参考文献(References):

- [1] Yang Z S(杨正生), Peng Z H(彭振辉), Yao Q H(姚青海), et al. Progress on pharmacological research of paeonol[J]. Chinese Remedies & Clinics(中国药物与临床), 2011, 11(5): 545-546.
- [2] Gao J H(高锦红), Zhang X Y(张学英), Zhu H Y(朱海燕). Determination of paeonol in radix cynanchi paniculati[J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室), 2012, 29(2): 1207-1209.
- [3] Li X Y(李向阳), Tu W Q(屠万倩). Determination of paeonol, paeoniflorin and ursolic acid in Liuwei Dihuang Pill by RP-HPLC[J]. Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2012, 34(2): 277-282.
- [4] Dong W, Shen H B, Liu X H, et al. CdSe/ZnS quantum dots based fluorescence quenching method for determination of paeonol[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2011, 78(1): 537-542.
- [5] Yu N J(于乃佳), Yu Y(于泳), Hu J B(胡劲波), et al. Studies on voltammetric behavior of paeonol and its application[J]. Journal of Beijing Normal University(Natural Science)(北京师范大学学报自然科学版), 2001, 37(1): 79-82.
- [6] Wang Y(王晔), Wu J(吴剑), Li D(李端), et al. Electrochemical oxidation of paeonol and its reaction mechanism [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2006, 34(9): 1331-1334.
- [7] Zhang H J, Gao M M, Yang X F. Electrochemical oxidation and detection of paeonol on modified electrode with acetylene black nanoparticles[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2011, 87(2): 378-381.
- [8] Yang S L, Qu L B, Yang R, et al. Modified glassy carbon electrode with Nafion/MWNTs as a sensitive voltammetric sensor for the determination of paeonol in pharmaceutical and biological samples [J]. Journal of Applied Electrochemistry, 2010, 40(7): 1371-1378.
- [9] Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). Pharmacopoeia of People's Republic of China (I)[M]. Beijing: China Medical Science Press(中国医药科技出版社), 2010: 161.

Electrochemical Behavior and Content Determination of Paeonol at Poly Sudan III Modified Electrode

ZHENG Yan-jie, LIU Ai-lin, LEI Yun, LIN Xin-hua*

(*Department of Pharmaceutical Analysis, Faculty of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China*)

Abstract: The poly Sudan III modified electrode was characterized by electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and cyclic voltammetry (CV), while the electrochemical behavior of paeonol was studied by cyclic voltammetry (CV). The result shows that the poly Sudan III modified electrode exhibits excellent electrocatalytic effect on the oxidation of paeonol. The peak currents of differential pulse voltammetry are linear to the paeonol concentrations over the range of $3.0 \times 10^{-7} \sim 2.2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The detection limit has been estimated to be $5.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. This method can be used for determination of paeonol content in real sample with satisfactory results.

Key words: paeonol; Sudan III; modified electrode; electrochemical behavior